Aus der Universitäts-Frauenklinik Erlangen

Direktor: Professor Dr. med. Rudolf Dyroff

Über die biologische Auswertung des LTH mit Hilfe des Deziduomtestes

INAUGURAL DISSERTATION

zur

ERLANGUNG DER DOKTORWÜRDE

der

HOHEN MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

zu

ERLANGEN

vorgelegt von

Klaus Baer aus Bayreuth

1960

Referent: Professor Dr. med. Rudolf Dyroff

Dekan: Professor Dr. med. Fritz Heim

Tag der mündlichen Prüfung: 19. Mai 1960

R. UNIV. BIBLIOTHEEK LEIDEN

Sonderabdruck aus dem
ZENTRALBLATT FÜR GYNÄKOLOGIE
84. Jahrgang. 1962 Heft 12
JOHANN AMBROSIUS BARTH, VERLAG, LEIPZIG
Printed in Germany

Aus der Universitäts-Frauenklinik Erlangen (Direktor: Prof. Dr. R. Dyroff)

Die Empfindlichkeit der Deziduomreaktion zum biologischen LTH-Nachweis

Von **K. Baer** und **K. H. Reiher**

Der biologische Nachweis des dritten gonadotropen Wirkstoffes Luteotropin (Prolaktin) — in der internationalen Abkürzung LTH — wird im allgemeinen am Proliferationseffekt des Epithel am Taubenkropf geführt. Die Methode wurde ursprünglich von Riddle und Mitarb. angegeben, und ist im Laufe der Zeit mehrfach modifiziert worden (Riddle und Braucher, McShan und Turner, Leblond und Allen, Brown und Sayers, Voss und Rabalt, van der Kuy und von Progge-Belle).

Die Methode der lokalen Stimulierung (Lyons und Page), eine der technischen Modifikationen der Originalmethode, ermöglicht die biologische Bestimmung von etwa 0,01 γ LTH-Substanz. Diese Methode erlaubt — nach ausreichenden Kontrolluntersuchungen — sehr empfindliche und weitgehend spezifische Bestimmungen. Der Nachweis einer positiven Reaktion bezieht sich auf einen morphologisch kontrollierbaren Proliferationseffekt des Epithel am Kropf der Taube.

Nach unseren heutigen Erkenntnissen hat LTH als gonadotroper Wirkstoff »duotrope« Wirkungen, die in einem histotrop-mammotropen, und einem luteotrophen, auf das Ovar gerichteten Effekt bestehen. Die letztere Wirkung konnte bisher nur an der Ratte gesichert werden. Der luteotrophe Effekt soll in An-

regung von Synthese und Sekretion des Progesteron im Ovar bestehen. Diese Ergebnisse gehen auf tierexperimentelle Untersuchungen zurück und können zumindest bei der Ratte als gesichert angesehen werden.

Eine sinngemäße Übertragung dieser funktionellen Zusammenhänge auf die physiologischen Verhältnisse anderer Tierspezies ist zunächst noch nicht allgemein möglich, kann andererseits aber mit entsprechenden Einschränkungen auch nicht ausgeschlossen werden, während diesbezügliche Verhältnisse beim Menschen noch weitgehend ungeklärt sind.

Eine ausführliche Darstellung der entsprechenden Problematik und vergleichend physiologische Betrachtungen sollen hier jedoch nicht angeschlossen werden.

Für den biologischen Nachweis minimaler Progesteronmengen stehen der Hooker-Forbes- und der Deziduomtest als Reaktionen zur Verfügung. Beide Teste beruhen auf einer progesteronabhängigen, typischen morphologischen Veränderung des Stroma endometrii der Maus oder der Ratte, sind sehr empfindlich und weitgehend spezifisch.

Wegen seiner luteotrophen Eigenschaft mußte der Gedanke naheliegen, LTH in dieser Richtung als Merkmal einer biologischen Nachweisreaktion zu prüfen.

Nach der heute als gesichert geltenden Feststellung kommt es im Ovar einer hypophysektomierten Ratte nur dann zur Progesteronbildung, wenn der 3. gonadotrope Wirkstoff vorhanden ist — oder das LTH — zugeführt wird.

Unter normalen Bedingungen, d. h. am intakten Tier, ist das Vorhandensein von LTH durch die körpereigene, funktionstüchtige Hypophyse garantiert. In der Absicht, dieses physiologische Verhalten auf einen einfachen Nenner bringen zu wollen, könnte man auch sagen, ohne LTH keine Progesteronproduktion im Gelbkörpergewebe der Ratte.

Führt man andererseits einem hypophysektomierten Tier, das über frisches Luteingewebe verfügt, LTH oder LTH-aktive Substanzen zu, so kommt es zu einer Progesteronbildung, die sich in entsprechenden biologischen Reaktionen erkennen und nachweisen läßt. Diese Beobachtung ist eine der wesentlichsten Grunderkenntnisse, die schließlich zur Aufklärung der biologischen Bedeutung des LTH führte.

Bisher wird — unter Ausnutzung der histotrop-mammotropen Wirkung des LTH — der biologische Nachweis dieses Wirkstoffes am Proliferationseffekt von Drüsensystemen geführt (Taubenkropf, Brustdrüse von Säugetieren).

Im Gegensatz zu den sehr zahlreichen Testmethoden, die sich auf den Nachweis einer histotrop-mammotropen Wirkung beziehen, ist bisher nur eine Methode bekannt, die auf einer Auswertung der luteotrophen Eigenschaften des LTH beruht.

Diese Methode sieht vor (van der Kuy und Mitarb.), daß infantile, weibliche, hypophysektomierte Ratten vom 1. Tag post operationem 10 Tage lang tägl. je 50 IE HCG (Choriongonadotropin) und 100 IE Serumgonadotropin bekommen. Vom dritten Behandlungstage an werden die jeweiligen Testsubstanzen injiziert. Durch Zellabstriche aus der Vagina wird der jeweilig vorliegende Hormonstatus kontrolliert. Die Beurteilung erfolgt nach den bekannten Grundsätzen der zytologischen Auswertemethoden. Erfahrungsgemäß tritt infolge der Gonadotropininjektion beim infantilen Tier zunächst durch die induzierte Follikelreifung (Serumgonadotropin mit überwiegend FSH-ähnlicher Wirkung!) eine Östrogenreaktion im vaginalen Zellbild auf. Durch die gleichzeitige Applikation von HCG (überwiegend ICSH-ähnliche Wirkung mit Luteinisierung!) erfolgt eine zunehmende Luteinisierung, jedoch ohne aktive Progesteronproduktion. Enthält nun die zugeführte Testsubstanz »LTH-Aktivität«, so wandelt sich

das für eine Östrogenwirkung typische Zellbild in negative, d. h. diöstrische Abstrichbilder um. Auf die einzelnen zellmorphologischen Einzelheiten soll hier nicht näher eingegangen werden. Die luteotrophe Wirkung der Testsubstanz äußert sich dann in einer mit der Höhe der Dosis zunehmenden Zahl an diöstrischen Abstrichbildern und in einer anhaltenden Dauer der diöstrischen Phase des Testtieres. An Hand einer Dosiswirkungskurve eines Eichpräparates läßt sich die LTH-Aktivität der Testsubstanz mit ziemlicher Genauigkeit bestimmen.

Ein anderer Weg besteht über den Nachweis am Deziduomtest. Dieser Test besteht darin, daß es nach einer Traumatisierung eines Uterushornes im jeweiligen Segment zu einer dezidualen Umwandlung der Stromazellen des Endometrium kommt, wenn Progesteron vorhanden ist. Auf welchem Wege die Traumatisierung zustande kommt, ist dabei nicht von ausschlaggebender Bedeutung. Über die Fragen der Technik des Deziduomtestes muß auf die entsprechende Literatur verwiesen werden.

Die Deziduomreaktion kann dann als positiv bezeichnet werden, wenn sich im Stroma endometrii der Testsegmente eindeutig morphologische Strukturveränderungen im Sinne einer dezidualen Umwandlung erkennen lassen. Die Auswertung setzt dementsprechende Erfahrungen in der histologischen Diagnostik voraus, bereitet im allgemeinen jedoch nicht die Schwierigkeit, wie sie die histologische Beurteilung der Zellveränderungen im Hooker-Forbes-Test gelegentlich bieten kann.

Strenggenommen stellt diese Methode einen biologischen Nachweis von Progesteron dar und vermittelt nur indirekt einen Hinweis auf die Beteiligung von LTH.

Da Produktion und Sekretion von Progesteron ohne die Mitwirkung des LTH nicht zustande kommen, kann der positive Nachweis einer Progesteronwirkung auf »LTH-Aktivität« bezogen werden unter der Voraussetzung, daß die Hypophyse als körpereigene LTH-Quelle vorher operativ ausgeschaltet wurde. Für die Vermutung, daß neben der Hypophyse andere Organe für eine LTH-Bildung in Frage kommen, besteht nach eigenen Untersuchungen (R e i h e r) kein Anlaß.

Die angegebene Technik stellt also mit dem Nachweis eines progestativen Effektes im Stroma endometrii eine i n d i r e k t e N a c h w e i s m e t h o d e des hypophysären Wirkstoffes LTH dar, im Gegensatz zu dem direkten, histotrop-mammotropen Effekt, auf dem die bisher bekannten Methoden aufbauen. Man kann sagen, daß die Deziduombildung in gewissen Grenzen einen Maßstab für die Funktionstüchtigkeit des Corpus luteum darstellt. Diese aber ist — wie bereits erwähnt — abhängig vom LTH, das als gonadotroper Wirkstoff bei der Ratte die Synthese und Sekretion des Progesteron beeinflußt und steuert.

In den eigenen Untersuchungen haben wir versucht, Aufschluß über die quantitative Verwertbarkeit des Deziduomtestes zu gewinnen. Wir verwendeten homologes Tiermaterial eines reingezüchteten Wistarstammes mit gewichts- und altersgleichen Tieren, deren zyklische Funktionen vorher überprüft worden waren. Die Tiere wurden nach Ablauf des Östrusstadium hypophysektomiert und erhielten vom Tage der Operation ab 4 Tage lang tägl. je 1mal 50 IE HCG s. c. injiziert. Einen Tag nach der Entfernung der Hypophyse wurden die Tiere laparotomiert und die Traumatisierung eines Uterushornes durchgeführt. (Durchziehen von Seidenfäden in Abständen von etwa 0,5 cm.) Das zweite Uterushorn wurde nicht traumatisiert, um als Kontrolle zu bleiben. Vom Tage der Traumatisierung an wurde täglich einmal die Testsubstanz — in unserem Falle LTH Reinsubstanz — in gleichbleibender Dosis für insgesamt 4 Tage injiziert. Am 6. Tage nach der Hypophysektomie wurden die Tiere getötet, beide Uterushörner ent-

nommen, 24 Stunden in Lavdowskischer Flüssigkeit (Zusammensetzung: 100,0 Formol 40%, 500,0 Alkohol, 35,0 Eisessig, 400,0 Aqua dest.) fixiert, in Paraffin eingebettet, die traumatisierten Testsegmente sowie entsprechende Teile des normalen Uterushornes in Serien aufgeschnitten, mit Hämatoxylin-Eosin gefärbt und histologisch ausgewertet.

Mit Hilfe des Deziduomtestes prüften wir an einer Serie von 20 Tieren die Wirkung einer LTH-Dosis von insgesamt 100 IE. Die Substanz wurde in täglichen Einzeldosen von 25 IE subcutan injiziert. Zwei Tiere gingen vorzeitig zugrunde, so daß lediglich eine Gruppe von insgesamt 18 Tieren ausgewertet werden konnte.

Von diesen 18 Tieren zeigten 15 eindeutig negative Reaktionen. 3 Tiere dieser Gruppe wiesen im histologischen Bild der Uterussegmente eine beginnende deziduale Umwandlung der Stromazellen auf, jedoch nicht so weit, daß man von einer positiven Reaktion hätte sprechen können.

In einer zweiten Versuchsreihe erhöhten wir unter gleichartigen Bedingungen die Gesamtdosis auf 200 IE LTH, wobei die Substanz in Einzelfraktionen zu 50 IE täglich appliziert wurde. In dieser Reihe verloren wir vor Abschluß der Untersuchungen 4 Tiere, so daß zur Auswertung nur 16 herangezogen werden konnten.

Von diesen 16 Tieren zeigten 13 eindeutig positive Reaktionen im histologischen Gewebsbild. In einem weiteren Fall fand sich eine deziduale Umwandlung, die zwar nicht das typische strukturelle Bild der sicher positiven Reaktion aufwies, aber u. E. doch schon in die Gruppe der positiven Ergebnisse eingereiht werden konnte. Ein weiteres Tier zeigte stark entzündliche Reaktionen mit fortschreitenden nekrobiotischen Gewebsveränderungen, so daß hier eine exakte Beurteilung nicht möglich erschien. In der geweblichen Grundstruktur war eine positive Reaktion nicht zu erkennen. Erfahrungsgemäß ist der Einfluß entzündlicher Prozesse häufig stark genug, um ein der Funktion entsprechendes, morphologisches Verhalten des Gewebes verhindern zu können. Ein Tier wies eine negative Reaktion auf.

Die unterschiedlichen Ergebnisse der beiden ersten Serien veranlaßten uns, eine dritte Gruppe zu kontrollieren und hier eine mittlere Dosis zu wählen.

Unter sonst gleichartigen methodischen Voraussetzungen wurden hier insgesamt 160 IE LTH in täglichen Einzeldosen von 40 IE injiziert. Bei einem Tier fand sich bei der Untersuchung eine flächenhafte Nekrose im präparierten Uterushorn mit beginnenden, peritonitischen Prozessen in der Umgebung. Zur Auswertung standen demnach nur 19 Tiere zur Verfügung. Wegen zahlreicher Übergangsformen bereitete die histologische Auswertung bei dieser Serie einige Schwierigkeiten. 5 Tiere zeigten sichere positive Reaktionen, 3 weitere enthielten morphologische Veränderungen, die man als eine beginnende deziduale Umwandlung bezeichnen könnte. Immerhin waren die strukturellen Veränderungen soweit charakteristisch, daß wir diese 3 Tiere noch in die Gruppe der positiven Fälle eingeordnet haben. Die übrigen 11 Tiere dieser Serie wiesen keine Gewebsveränderungen auf und mußten als negativ bezeichnet werden.

Ohne auf eine statistische Untersuchung und Begründung eingehen zu wollen, geht u. E. aus den erwähnten Ergebnissen folgendes hervor:

In Übereinstimmung mit den Untersuchungen von Evans, Simpson, Lyons und Turpeinen, Astwood sowie Loraine ist zu sagen, daß der biologische Nachweis von LTH mit Hilfe des Deziduomtestes an der hypophysektomierten Ratte grundsätzlich möglich ist. Diese Feststellung veranlaßte uns, die Frage der quantitativen Verwertbarkeit dieses Testes zu überprüfen. Unsere

Ergebnisse zeigen, daß erst nach Zufuhr relativ beträchtlicher Dosen von 150 bis 200 IE positive Reaktionen zustande kommen. »LTH-Aktivitäten« einer Dosis von 200 IE vergleichbar, lösen eindeutig positive Reaktionen aus.

In Anbetracht dieser Werte stellt diese Methode im Vergleich zum Proliferationseffekt am Epithel des Taubenkropfes, der den Nachweis von 0,01 γ unter geeigneten Bedingungen erlaubt, eine relativ grobe und wenig empfindliche biologische Nachweismethode dar. Damit dürfte diese Testmethode kaum geeignet sein, den biologischen Nachweismethoden am Epithel des Taubenkropfes an die Seite gestellt zu werden, abgesehen von der komplizierten Technik, die nur bei entsprechender Empfindlichkeit des Testes gerechtfertigt erscheinen könnte.

Zusammenfassung

Nach der bekannten Methode des Deziduomtestes zum biologischen Nachweis von »LTH-Aktivität« am Uterus der hypophysektomierten Ratte wurde durch quantitative Untersuchungen die Empfindlichkeit des Testes geprüft. Es ergibt sich, daß sicher positive Reaktionen erst bei Dosen von 150 bis 200 IE erwartet werden können. Im Vergleich zum Proliferationstest am Taubenkropf ergibt sich demnach eine relativ geringe Empfindlichkeit der Deziduomreaktion. Eine praktische Verwertbarkeit dieser biologischen Nachweismethode ist daher in Frage gestellt. Für die Bestimmung minimaler LTH-Aktivitäten bietet der Proliferationseffekt am Epithel des Taubenkropfes demnach die geeigneten Voraussetzungen.

Schrifttum

Astwood, Proc. Soc. Exper. Biol. Med., N. Y. **46** (1941) 568. — Brown, R. W., D. M. Woodsbury und G. Sayers, Proc. Soc. Exper. Med. **76** (1951) 639. — Evans, Simpson und Turpeinen, Endocrinology **23** (1941) 933. — van der Kuy, A., van Soest, E. M., und A. C. C. Prooge-Belle, Proc. Kon. Ned. Acad. v. Wetensch Ser. C. **56** (1953) 62. — Leblond, C. P., und E. Allen, Endocrinology **21** (1937) 455. — Lyons, W. R., und E. Page, Proc. Exper. Biol. Med. **32** (1953) 1049. — Mc. Shan, W. H., J. S. Davis, S. W. Soukup und R. K. Meyer, Endocrinology **47** (1950) 274. — Rabald, E., und H. E. Voss, Z. physiol. Chem. **261** (1939) 71. — Reiher, K. H., Habil.-Schrift, Erlangen 1959. — Riddle, O., R. W. Bates und S. W. Dykshorn, Proc. Soc. exper. Biol. Med. **29** (1932) 1211. — Voss, H. E., Arzneimittel-Forsch., Aulendorf **8** (1954) 467.

Anschr. d. Verf.: Erlangen, Univ.-Frauenklinik

ZENTRALBLATT FÜR GYNÄKOLOGIE
Erscheint wöchentlich, jährlich 52 Hefte. Bezugspreis vierteljährlich DM 17.—

B. G. Teubner, Leipzig C 1, Querstr. 17 (III/18/154) — ZLN 5053

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548815_0111

LEBENSLAUF

Am 17. April 1930 wurde ich als Sohn des Studienrates Dr. Konrad Baer und seiner Ehefrau Henny Baer in Bayreuth geboren.

Meine Kindheit verbrachte ich in Bayreuth, besuchte dort die Volksschule und wechselte nach vier Jahren in die Oberschule über, die ich im Juli 1950 nach bestandener Reifeprüfung verlassen konnte.

An der Friedrich-Alexander-Universität zu Erlangen studierte ich Medizin und legte dort 1958 das Staatsexamen ab.

Die vorliegende Arbeit entstand während meiner Medizinalassistentenzeit an der Universitätsfrauenklinik Erlangen.

Klaus Baer